BACTERIES LACTIQUES

(OIV-Oeno 328-2009, OIV-Oeno 494-2012)

1. OBJET, ORIGINE ET DOMAINE D'APPLICATION

Les bactéries lactiques sont utilisées en œnologie pour effectuer la fermentation malolactique. Elles doivent appartenir aux genres Oenococcus (*Leuconostoc), Lactobacillus et Pediococcus* et doivent avoir été isolées des raisins, des moûts ou des vins ou être dérivées de ces bactéries.

L'utilisation de bactéries génétiquement modifiées doit être soumise à l'autorisation préalable des autorités compétentes.
Les souches de bactéries lactiques doivent être conservées dans les conditions favorisant leur stabilité génétique.
Une bactérie lactique utilisable en œnologie doit donc transformer l'acide malique du moût ou du vin en acide lactique et en dioxyde de carbone, ne devrait produire des amines biogènes qu'en quantités les plus faibles possibles, et ne doit pas donner de faux goûts.

2. ETIQUETAGE

Doivent figurer sur l'étiquette:

- Le nom du genre, la ou les espèces ainsi que la ou les références de souches dans le cas où il existe un organisme d'enregistrement
- L'entité de l'obtenteur ou du sélectionneur
- Le mode d'emploi ou la méthode et les éventuels additifs de réactivation préconisés par le fabricant.
- Le nombre minimum de cellules revivifiables par gramme de préparation qui est garanti par le fabricant.
- Le numéro de lot de fabrication, en plus de la date d'expiration et des conditions de stockage avec une indication par le fabricant d'une température de stockage conseillée.
- Le cas échéant, l'indication que les bactéries lactiques ont été obtenues par modifications génétiques ainsi que le ou les caractères modifiés.
- Les additifs.

3. CARACTERES

Elles sont commercialisées, soit sous forme liquide, soit sous forme congelée, soit déshydratée par lyophilisation ou séchage, en culture pure ou en association de cultures pures.

4. LIMITES ET METHODES D'ESSAIS

4.1 - Humidité pour les bactéries lyophilisées ou sèches

Mesurée par la perte de poids de 5 g de produit, séché à 105 °C jusqu'à poids constant (environ 3 heures).
La teneur maximale doit être inférieure à 8 %.

4.2 - Plomb

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
La teneur doit être inférieure à 2 mg/kg de matière sèche.

4.3 - Mercure

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.4 - Arsenic

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
La teneur doit être inférieure 3 mg/kg de matière sèche.

4.5 - Cadmium

Procéder au dosage selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
La teneur doit être inférieure 1 mg/kg de matière sèche.

4.6 - Bactéries lactiques revivifiables

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
Le nombre doit être supérieur ou égal à 10^8 UFC/g ou 10^8 UFC/ml pour les bactéries lactiques sous forme liquide ou congelée.
Le nombre doit être supérieur ou égal à 10^{11} UFC/g pour les bactéries lactiques sous forme lyophilisée ou sèche.

Note : sauf pour les bactéries spécifiques destinés aux vins acides (pH jusqu'à 2,85) qui doivent être utilisées avec un procédé de pré-multiplication dans du moût et/ou du vin figurant en annexe, dont la population ne pourra être inférieure à 10^9 UFC/g .

1) Référence : Bridier, J., O. Claisse, M. Coton, E. Coton and A. Lonvaud-Funel (2010). "Evidence of distinct populations and specific subpopulations within the species *Oenococcus oeni*." Appl Environ Microbiol **76**(23): 7754-7764.

4.7 - Moisissures
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
Le nombre doit être inférieur à 10^3UFC/g.

4.8 - Bactéries acétiques contaminantes
Procéder au dénombrement selon les méthodes figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
Le nombre de bactéries acétiques doit être inférieur à 10^3 UFC/ml pour les bactéries acétiques sous forme liquide ou congelée ou 10^4 UFC/g pour les bactéries acétiques sous forme lyophilisée ou sèche. La somme *Acetobacter* + *Gluconobacter* doit être inférieure à 10^3 UFC/ml pour les bactéries acétiques sous forme liquide ou congelée ou 10^4 UFC/g pour les bactéries acétiques sous forme lyophilisée ou sèche.

4.9 – Levures contaminantes
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
Le nombre de cellules revivifiables de levures contaminantes total doit être inférieur à 10^3 UFC/g pour les bactéries sous forme lyophilisée ou sèche ou 10^2 UFC/ml pour les bactéries sous forme liquide ou congelée.

4.10 - Salmonelles
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international.
L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 25 g.

4.11 - *Pseudomonas aeruginosa*[1]

4.12 - *Escherichia coli*
Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international en utilisant le milieu sélectif-différentiel pour *Escherichia coli* TEM figurant en annexe.
Une suspension mère de bactéries lactiques est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de bactéries lactiques pour 10 ml de solution (volume total). 2 mL de la solution mère sont transférés dans chaque plaque en utilisant 5 plaques différentes.
L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g.

[1] Point à étudié ultérieurement par le groupe d'expert "Microbiologie"

4.13 - Staphylocoques

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international. La présence de staphylocoques est évaluée par une culture d'enrichissement sur milieu liquide Giolitti et Cantoni suivi d'une confirmation sur milieu solide Baird Parker figurant en annexe.

Une suspension mère de bactéries lactiques est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de bactéries lactiques pour 10 ml de solution (volume total). 10 ml de suspension mère sont utilisés pour inoculer un milieu Giolitti et Cantoni au Tween 80 double concentration. Les cultures sont incubées 48 h à 37 °C.
Dans le cas où des tubes de milieu Giolitti et Cantoni donnent une réponse positive, la présence de Staphylocoques est confirmée par isolement sur milieu solide Baird Parker. Une anse des milieux de culture positif sont utilisée pour inoculer des milieux solides BP de sorte à obtenir des colonies isolées. L'absence doit être contrôlée sur un échantillon de 1 g.

4.14 - Coliformes

Procéder au dénombrement selon la méthode figurant au chapitre II du Codex œnologique international en utilisant le milieu sélectif-différentiel pour coliformes gélose au désoxycholate figurant en annexe.
Une suspension mère de bactéries lactiques est réalisée dans une solution Tryptone-sel à raison de 1 g de bactéries lactiques pour 10 ml de solution (volume total). 2 mL de la solution mère sont transférés dans chaque plaque en utilisant 5 plaques différentes.
Le nombre doit être inférieur à 10^2 UFC/g.

5. ADDITIFS

Ils doivent être conformes aux réglementations en vigueur.

6. CONSERVATION

Dans tous les cas, se référer aux prescriptions du fabricant.

Annexe

Préparation d'un « pied de cuve malo »

pour ensemencer 100 hL de vin ou un volume quelconque
à partir des valeurs entre parenthèses en %,
les quantités de poudre sont exprimées en g/L

Réactivation

Moût pH > 3,2 - peu sulfité (SO_2 < 40 mg/L)
10 litres (3 % du pied de cuve)

Eau chaude pour obtenir un mélange à 25°C :
10 litres (3 % du pied de cuve)

Activateur : 100 ou 200 g, soit 5 ou 10 g/L *

Bactéries : 80 g, soit 4 g/L

LSA : 10 g, soit 0,5 g/L

20 litres
Température
25°C

* Selon l'activateur utilisé

Après 3 jours

Pied de cuve

Moût peu sulfité (SO_2 < 40 mg/L)
3 hL (3 % du volume à ensemencer)

LSA : 60 g, soit 0,2 g/L

3 hL
Température
25°C pendant FA
20°C pendant FML

Quand l'acide malique
est dégradé au 2/3

Cuve

100 hL de **vin**
en cours ou en fin de FA

100 hL